

und dicht verschlossen wurden. Jeweils drei dieser Kapseln wurden dann in einem MRA/112R-Hochdruckautoklaven (TEM-PRESS research division, USA) unter Verwendung von destilliertem Wasser unter Druck gesetzt. Die Hydrothermalexperimente wurden isotherm im Temperaturbereich zwischen 170 und 270 °C in 60 d bei einem Druck von 1 kbar durchgeführt. Jedes Experiment wurde zweimal wiederholt. Diese Bedingungen wurden anhand der Erfahrungen aus früheren Zeolithsynthesen nach dieser Methode gewählt.<sup>[3b,c, 5, 9]</sup>

Die kristallinen Phasen, die sich an der Oberfläche der ursprünglichen Gläser bildeten, wurden durch röntgenographische Phasenanalyse (XRD) sowie energiedispersive Röntgenanalyse (EDX) zur Bestimmung der chemischen Zusammensetzung untersucht, die Morphologie der Kristalle anschließend durch rasterelektronenmikroskopische (REM-) Aufnahmen. Diese wurden nach der Stereo-Komparatormethode zur Kristallindizierung und kristallographischen Analyse ausgewertet.<sup>[8]</sup>

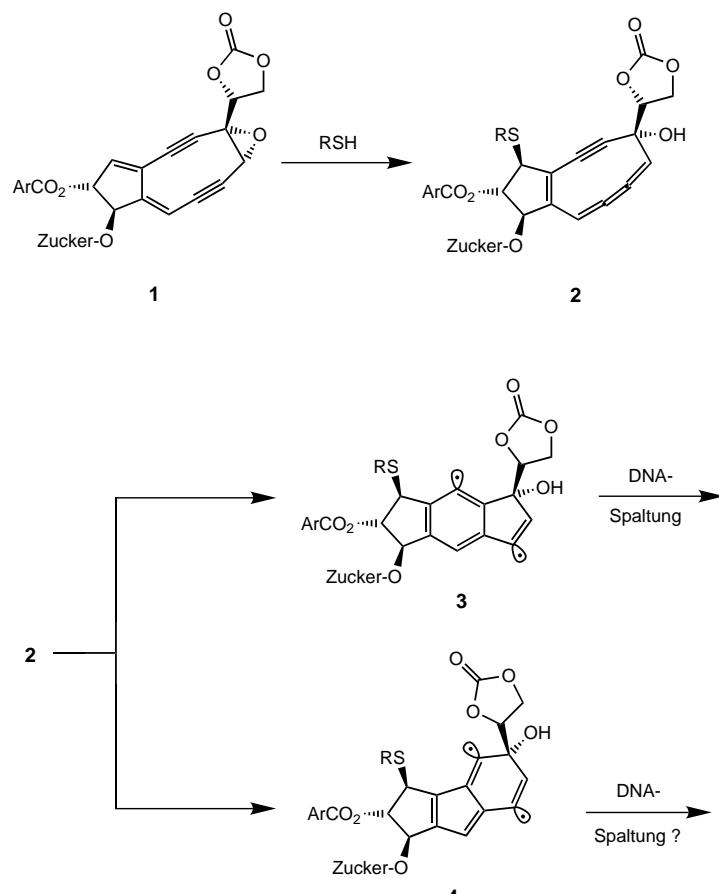
Eingegangen am 4. Mai 2001 [Z17048]

- [1] R. M. Barrer, *The Hydrothermal Chemistry of Zeolites*, 1. Aufl., Academic Press, London, **1982**.
- [2] a) G. J. Kim, W. S. Ahn, *Zeolites* **1991**, *11*, 745–750; b) M. L. Occelli, H. E. Robson, *Synthesis of Microporous Materials*, Vol. 2, Chapman and Hall, London, **1992**; c) *Molecular Sieves, Science and Technology*, Vol. 1, *Synthesis* (Hrsg.: H. G. Karge, J. Weitkamp), Springer, Berlin, **1998**.
- [3] a) G. Gottardi, E. Galli, *Natural Zeolites*, Springer, Heidelberg, **1985**; b) H. Ghobarkar, O. Schäf, *Microporous Mesoporous Mater.* **1998**, *23*, 55–60; c) H. Ghobarkar, O. Schäf, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **1998**, *31*, 3172–3176.
- [4] O. Chiyoda, M. E. Davis, *Microporous Mesoporous Mater.* **1999**, *32*, 257–264.
- [5] H. Ghobarkar, O. Schäf, U. Guth, *Prog. Solid State Chem.* **1999**, *27*, 29–73.
- [6] *Atlas of Zeolite Structure Types*, 4. Aufl. (Hrsg.: W. M. Meier, D. H. Olson, C. Baerlocher), Elsevier, London, **1996**.
- [7] a) K. Fischer, *Neues Jahrb. Mineral. Monatsh.* **1966**, 1–13; b) F. Mazzi, E. Galli, *Neues Jahrb. Mineral. Monatsh.* **1983**, 4461–4480; c) S. Merlino, E. Galli, A. Alberti, *TMPPM Tschermaks Mineral. Petrogr. Mitt.* **1975**, *22*, 117–129; d) A. Kawahara, H. Curien, *Bull. Soc. Fr. Mineral. Crystallogr.* **1969**, *92*, 250–256; e) J. A. Gard, J. M. Tait, *Acta Crystallogr.* **1972**, *28*, 825–834; f) G. Bergerhoff, W. H. Baur, W. Nowacki, *Neues Jahrb. Mineral. Monatsh.* **1958**, 193–200.
- [8] H. Ghobarkar, *Krist. Tech.* **1977**, *12*, K49–51.
- [9] a) H. Ghobarkar, O. Schäf, P. Knauth, *Ann. Chim. (Paris)* **1999**, *24*, 209–215; b) H. Ghobarkar, O. Schäf, U. Guth, *High Pressure Res.* **2001**, *20*, 45–54.

## Welche Strukturmotive bestimmen die Wirksamkeit des Neocarzinostatins?\*\*

Patrick W. Musch und Bernd Engels\*

Neocarzinostatin (NCS) gehört zu den natürlich vorkommenden Endiinen, die eine hohe Wirksamkeit als Antitumor-Antibiotika aufweisen.<sup>[1]</sup> Es stellt einen 1:1-Komplex eines Apoproteins und eines biologisch aktiven nichtproteinischen Chromophors (**1** in Schema 1) dar.<sup>[1, 2]</sup> Im ersten Schritt des



Schema 1. Wirkmechanismus des Neocarzinostatin-Chromophors **1**.

Wirkmechanismus von NCS<sup>[2b, 3]</sup> wird **1** durch das Apoprotein, das zur gleichen Zeit auch als Stabilisator fungiert, in die kleine Furche der DNA transportiert. Nach der Bindung von **1** an die DNA erfolgt im Anschluss an die Abspaltung des Apoproteins und einer stereospezifischen nucleophilen Addi-

[\*] Prof. Dr. B. Engels, Dipl.-Chem. P. W. Musch  
Institut für Organische Chemie  
Universität Würzburg  
Am Hubland, 97074 Würzburg (Deutschland)  
Fax: (+49) 931-888-4606  
E-mail: bernd@chemie.uni-wuerzburg.de

[\*\*] Wir danken Prof. Dr. M. Schmittel, der unsere Aufmerksamkeit auf diese Fragestellung richtete. P.W.M. dankt dem Fonds der Chemischen Industrie für ein Promotionsstipendium.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

tion eines Thiols die Umlagerung von **1** zum hochgespannten Enin-[3]-cumulen **2**. Im darauffolgenden Schritt führt die C<sup>3</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung zu dem Biradikal **3**, welches durch eine zweifache Wasserstoffabstraktion an Adenin und Thymin die Spaltung des DNA-Stranges einleitet, die zum Zelltod führt.

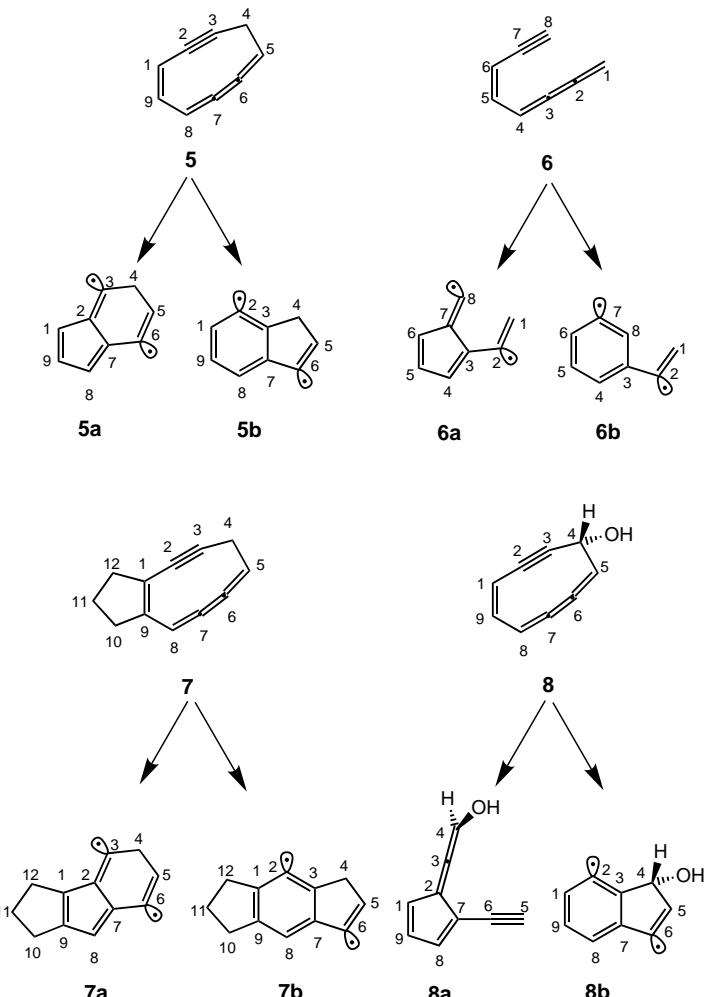
Obwohl der allgemeine Verlauf des Wirkmechanismus von NCS aufgeklärt ist, ist bisher unklar, welche Strukturmotive die hohe Wirksamkeit von NCS bedingen. Hinsichtlich dieser Thematik stellen wir neue, auf Ab-initio-Rechnungen basierende Einblicke vor, die für die Entwicklung neuer Antitumor-Antibiotika von großem Interesse ist. Zunächst vergleichen wir die Sechsringcyclisierung, die im Wirkmechanismus des NCS gefunden wird, mit der alternativen Fünfringcyclisierung zwischen den Zentren C<sup>2</sup> und C<sup>7</sup>. Letztere führt zu dem Intermediat **4** anstelle von **3**, wobei beide Spezies formal Biradikale entsprechen. Für ein neungliedriges, monocyclisches Eninallen, das eine Modellverbindung für den Chromophor von NCS (**1**) darstellt, zeigen Rechnungen, dass dieser alternative Reaktionsverlauf gegenüber der Sechsringcyclisierung kinetisch bevorzugt ist.<sup>[4]</sup> Aus dem Vergleich dieser beiden Cyclisierungsarten lassen sich Modellvorstellungen über die Aufgaben der Substituenten in **2** entwickeln. Abschließend untersuchen wir das Potenzial der entstehenden Biradikale zur darauffolgenden Wasserstoffabstraktion, die zur DNA-Spaltung führt. Unsere Untersuchungen ergeben einen neuen Einblick in die raffinierten Effekte, welche die Natur nutzt, um hochwirksame Antitumor-Antibiotika zu erhalten. Für die Weiterentwicklung dieser Substanzen sind diese Informationen interessant, da einige der Faktoren, die die Wirksamkeit einschränken, verständlich werden.

Die berechneten Aktivierungsbarrieren der Sechsring- (C<sup>3</sup>-C<sup>7</sup>) und der Fünfringcyclisierung (C<sup>2</sup>-C<sup>7</sup>) für verschiedene Modellverbindungen, die in Tabelle 1 zusammengefasst sind, ermöglichen einen ersten Einblick in die oben dargelegte Thematik.<sup>[5]</sup> Zunächst soll das Grundsysteem des NCS-Chromophors (**5**, Schema 2) betrachtet werden. Für die Aktivierungsbarrieren stellt der CCSD(T)-Ansatz<sup>[6]</sup> die verlässlichste Beschreibung dar, da die Übergangszustände eine geschlossenschalige elektronische Struktur haben. Rechnungen auf diesem Niveau zeigen eine kinetische Bevorzugung der C<sup>2</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung gegenüber der C<sup>3</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung ( $\Delta E^+(C^2-C^7) = +14 \text{ kcal mol}^{-1}$  vs.  $\Delta E^+(C^3-C^7) = +17 \text{ kcal mol}^{-1}$ ), wobei der letztere Reaktionsweg als einziger

Tabelle 1. Übergangszustände der beiden möglichen Cyclisierungswege. Alle Werte sind in  $\text{kcal mol}^{-1}$  angegeben.

Methode	C <sup>2</sup> -C <sup>7</sup> -Cyclisierung <sup>[a]</sup>		C <sup>3</sup> -C <sup>7</sup> -Cyclisierung <sup>[b]</sup>	
	$\Delta E^+$	$\Delta G_{298K}^+$	$\Delta E^+$	$\Delta G_{298K}^+$
<b>5</b>	UB3LYP/6-31G(d)	+18.6	+17.6	+21.1
	CCSD(T)/cc-pVDZ	+13.8		+16.5
<b>6</b>	UB3LYP/6-31G(d)	+31.9	+31.9	+22.2
	CCSD(T)/cc-pVDZ	+29.7		+20.1
<b>7<sup>[c]</sup></b>	UB3LYP/6-31G(d)	+22.8	+21.4	+22.2
<b>8</b>	UB3LYP/6-31G(d)	+19.5	+18.3	+21.6
	CCSD(T)/cc-pVDZ	+16.1		+18.3

[a] für **6**: C<sup>3</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung. [b] für **6**: C<sup>3</sup>-C<sup>8</sup>-Cyclisierung. [c] CCSD(T)-Rechnungen konnten aufgrund numerischer Probleme nicht durchgeführt werden.



Schema 2. In dieser Arbeit verwendete Modellsysteme zur Untersuchung des Einflusses der Ringspannung und Substituenteneffekte auf die Cyclisierung von NCS.

im Wirkmechanismus des NCS nachgewiesen wurde.<sup>[1]</sup> Die Daten der C<sup>3</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung stimmen sehr gut mit BD(T)-Rechnungen von Cramer und Squires überein.<sup>[7]</sup> Geht man vom monocyclischen **5** zum acyclischen Enincumulen **6** über, so hat die C<sup>3</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung für **6** eine deutlich kleinere Aktivierungsbarriere als die C<sup>2</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung ( $\Delta E^+(C^2-C^7) = +30 \text{ kcal mol}^{-1}$  vs.  $\Delta E^+(C^3-C^7) = +20 \text{ kcal mol}^{-1}$ ). Der Vergleich zwischen **5** und **6** zeigt, dass ein Wechsel in der Regioselektivität durch die Ringspannung im monocyclischen Enincumulen **5** hervorgerufen wird. Diese Ringspannung ist für die Wirksamkeit von **2** von großer Bedeutung, da die Aktivierungsenergien beider Cyclisierungsmodi deutlich erniedrigt werden. Zusätzlich hat **5b** im Unterschied zu **6b** einen fixierten Abstand von 3.55 Å zwischen den beiden Radikalzentren. Diese Fixierung könnte für die Effizienz der zweifachen Wasserstoffabstraktion, die den letzten Schritt des Wirkmechanismus von NCS darstellt, bedeutsam sein. Dass im Wirkmechanismus des NCS jedoch nur die C<sup>3</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung beobachtet wird, deutet darauf hin, dass die in **2** vorhandenen Substituenten die Regioselektivität der Reaktion von der C<sup>2</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung in **5** zur C<sup>3</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung umkehren.

Die Bedeutung des Einflusses der Substituenten auf die Kontrolle der Regioselektivität kann Tabelle 1 entnommen werden. Der Cyclopentenring in **7** scheint für die Steuerung der Regioselektivität wichtig zu sein, da die zusätzlich induzierte Ringspannung die Aktivierungsenergie der C<sup>2</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung stärker anhebt, als die der C<sup>3</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung. Ein ähnlicher Trend wurde auch für Eninallene experimentell beobachtet.<sup>[8]</sup> Im Unterschied dazu, erhöht ein OH-Substituent am C<sup>4</sup>-Zentrum (**8**) beide Aktivierungsbarrieren um den gleichen Betrag (2 kcal mol<sup>-1</sup>) und hat daher keinen Einfluss auf die Regioselektivität der Cyclisierung. Der Substituent verändert den Reaktionspfad der C<sup>2</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung jedoch vollständig. Mit dem Ringschluss zwischen C<sup>2</sup> und C<sup>7</sup> öffnet sich der neungliedrige Ring zwischen C<sup>4</sup> und C<sup>5</sup> und führt zu **8a**. Die C<sup>3</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung verläuft dagegen entlang eines biradikalischen Reaktionspfades. Polare Lösungsmittel bevorzugen die C<sup>3</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung, da sie die Aktivierungsenergien der C<sup>3</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung von **5** und **7** um etwa 0.5 kcal mol<sup>-1</sup> absenken, während die Aktivierungsenergien der C<sup>2</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung um etwa den gleichen Betrag angehoben werden. Außer den Aktivierungsbarrieren muss auch die Auswirkung der Reaktionsenergien auf die Kontrolle der Regioselektivität berücksichtigt werden. Die in Tabelle 2

Tabelle 2. Reaktionsenergie für beide Cyclisierungsreaktionen und Singulett-Triplett-Aufspaltungen für die entsprechenden Intermediate. Alle Werte sind in kcal mol<sup>-1</sup> angegeben.

Methoden	<b>5a</b>	<b>5b</b>	<b>6a</b>	<b>6b</b>	<b>7a</b>	<b>7b</b>
UB3LYP/6-31G(d)	+17.3	+0.8	+16.4	-8.5	+22.2	+2.0
MR-CI + Q/cc-pVDZ	+12.0	-3.7	-	-	-	-
<i>E<sub>S-T</sub></i> (UB3LYP/6-31G(d))	+11.9	+4.5	-3.4	+1.3	+13.0	+4.41

dargestellten Reaktionsenergien zeigen, dass für die in dieser Arbeit betrachteten Modellsysteme die C<sup>3</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung auch thermodynamisch begünstigt ist.

Aus den erhaltenen Ergebnissen folgt, dass eine der Aufgaben der Substituenten im Chromophor des NCS die Unterdrückung der Fünfringcyclisierung ist. Eine mögliche Begründung hierfür ergibt sich aus den berechneten Reaktionsenergien der beiden Cyclisierungsmodi und den Singulett-Triplett-Aufspaltungen (*E<sub>S-T</sub>*) der entstehenden Intermediate (Tabelle 2).<sup>[9]</sup> Das Intermediat der C<sup>2</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung **5a** liegt energetisch so hoch, dass seine Lebenszeit durch die annähernd barrierefreie Rückreaktion erheblich begrenzt ist. Zusätzlich deutet die berechnete *E<sub>S-T</sub>* von 12 kcal mol<sup>-1</sup> darauf hin, dass **5a** keinen ausgeprägten biradikalischen Charakter hat. Im Unterschied hierzu liegt **5b** energetisch deutlich unterhalb des Reaktanten und ist ein echtes Biradikal (*E<sub>S-T</sub>* ≈ 4 kcal mol<sup>-1</sup>). Die Unterschiede bezüglich Lebensdauer und biradikalischen Charakter deuten darauf hin, dass eine effiziente Wasserstoffabstraktion, die der wichtige letzte Schritt im Wirkmechanismus des NCS ist, nur mit **5b** möglich sein wird. Ähnliches findet man für **7**, was darauf hinweist, dass die gefundenen Unterschiede allgemein für bicyclische Enincumulene gelten. Die kleine *E<sub>S-T</sub>* von **6a** zeigt, dass die Ringspannung in cyclischen Enincumulenen für die großen

*E<sub>S-T</sub>* in **5a** und **7a** verantwortlich ist. Es ist zu erwarten, dass Enincumulene, in denen die C<sup>2</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung nicht unterdrückt wird, eine geringere Wirksamkeit als Antitumor-Antibiotika haben.

Unsere Untersuchungen konnten zeigen, dass der Chromophor des NCS ein faszinierendes Beispiel für einen Naturstoff ist, in dem ein kompliziertes Gleichgewicht zwischen verschiedenen Einflüssen zum gewünschten Ergebnis führt. Während die monocyclische Enincumuleneinheit für die Generierung eines Biradikals mit einem fixierten Abstand der beiden radikalischen Zentren und eine niedrige Aktivierungsbarriere für die Cyclisierung verantwortlich ist, sind die Substituenten, die in **2** vorhanden sind, notwendig, um die konkurrierende C<sup>2</sup>-C<sup>7</sup>-Cyclisierung zu unterdrücken.

Eingegangen am 14. Mai 2001 [Z17096]

- [1] K. Edo, Y. Koide in *Neocarzinostatin: The Past, the Present and Future of an Anticancer Drug* (Hrsg.: H. Maeda, K. Edo, N. Ishida), Springer, Tokyo, **1997**, S. 23–45.
- [2] a) N. Ishida, K. Miyazaki, K. M. Kumagai, K. M. Rikimaru, *J. Antibiot.* **1965**, *18*, 68–76; b) K. C. Nicolaou, W.-M. Dai, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1453–1481; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1387–1416.
- [3] a) I. H. Goldberg, *Acc. Chem. Res.* **1991**, *24*, 191–198; b) A. G. Myers, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 4493–4496.
- [4] P. R. Schreiner, M. Prall, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8615–8627.
- [5] Die Geometrieparameter aller stationärer Punkte wurden mit analytischen Gradienten im Rahmen der Dichtefunktionaltheorie (DFT) in der Implementierung des Gaussian98 optimiert.<sup>[10]</sup> Für die DFT-Rechnungen wurde das B3LYP-Funktional<sup>[11]</sup> in Verbindung mit einem 6-31G(d)-Basissatz<sup>[12]</sup> unter Aufhebung jeglicher Spin- und Raumsymmetrie der Wellenfunktion verwendet. Sämtliche stationären Punkte wurden durch die berechneten harmonischen Frequenzen auf dem gleichen theoretischen Niveau charakterisiert. Schwingungs-, Entropie- und thermische Korrekturen bei 298 K wurden ebenfalls auf dem B3LYP/6-31G(d)-Niveau berechnet. Die Abschätzung von Lösungsmittelleffekten erfolgte mit dem COSMO-Modell<sup>[13]</sup> in Verbindung mit B3LYP/6-31G(d) und den Standardwerten für Wasser. Die Energien der Übergangszustände wurden durch Einzelpunktrechnungen mit der Closed-Shell-Coupled-Cluster-(CCSD(T)) Methode unter Verwendung eines cc-pVDZ-Basissatzes<sup>[14]</sup> mit dem MOLPRO 2000.1 Programm Paket bestimmt.<sup>[15]</sup> Die Qualität der CCSD(T)-Rechnungen wurde durch *T<sub>1</sub>*-Diagnostik überprüft. Die Berechnung der Reaktionsenergien erfolgte im Rahmen des Multi-Referenz-Konfigurations-Wechselwirkungs-Verfahrens (MR-CI). Für die mit dem DIESEL-MRCI-Programmpaket<sup>[16]</sup> durchgeführten Rechnungen wurde ein cc-pVDZ-Basissatz verwendet. Der Einfluss der Vierfachanregungen wurde nach der Davidson-Methode abgeschätzt. Der Referenzraum des individuell selektierenden MR-CI bestand aus bis zu 27 Konfigurationszustandsfunktionen (CSF), die einen Konfigurationsraum von bis zu  $223 \times 10^6$  CSF generierten. Die zu lösenden Säkulargleichungen waren in der Größenordnung von  $2 \times 10^6$ . Der Einfluss von Lösungsmittelleffekten kann aus den Hintergrundinformationen entnommen werden.
- [6] In den meisten Fällen stellt der CCSD(T)-Ansatz eine verlässlichere Methode als DFT dar. Während beide Verfahren für  $\Delta E^*$  des acyclischen **6** gut übereinstimmen, werden größere Unterschiede für die monocyclischen Ringsysteme **5** und **8** gefunden. Beide Methoden sagen zwar unterschiedliche absolute Werte voraus, der Trend der Werte wurde jedoch auch schon mit DFT-Rechnungen erhalten.
- [7] C. J. Cramer, R. R. Squires, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 215–218.
- [8] a) M. Schmittel, J.-P. Steffen, D. Auer, M. Maywald, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6177–6180; b) M. Schmittel, J.-P. Steffen, M. Maywald, B. Engels, H. Helten, P. Musch, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2001**, 1331–1339.

[9] Für **5b** stimmen die berechneten Werte für die Singulett-Triplett-Aufspaltung sehr gut mit denen auf BD(T)-Niveau erhaltenen in Lit. [7] überein.

[10] Gaussian 98 (Revision A.7), M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, V. G. Zakrzewski, J. A. Montgomery, R. E. Stratmann, J. C. Burant, S. Dapprich, J. M. Millam, A. D. Daniels, K. N. Kudin, M. C. Strain, O. Farkas, J. Tomasi, V. Barone, M. Cossi, R. Cammi, B. Mennucci, C. Pomelli, C. Adamo, S. Clifford, J. Ochterski, G. A. Petersson, P. Y. Ayala, Q. Cui, K. Morokuma, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. Cioslowski, J. V. Ortiz, A. G. Baboul, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. Gomperts, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, C. Gonzalez, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. G. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, J. L. Andres, M. Head-Gordon, E. S. Replogle, J. A. Pople, Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, **1998**.

[11] a) A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648–5652; b) C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 785–789.

[12] W. J. Hehre, R. Ditchfield, J. A. Pople, *J. Chem. Phys.* **1972**, *56*, 2257–2261.

[13] A. Klamt, G. Schürmann, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1993**, 799–805.

[14] T. H. Dunning, Jr., *J. Chem. Phys.* **1989**, *90*, 1007–1023.

[15] H.-J. Werner, P. J. Knowles, MOLPRO 2000.1, Stuttgart, Birmingham, **2000**.

[16] M. Hanrath, B. Engels, *Chem. Phys.* **1997**, *225*, 197–202.

Bindung an E-Selektin.<sup>[5–7]</sup> Bei den natürlichen Liganden der Selektine sind offenbar auch andere Strukturelemente in die spezifische Bindung einbezogen. Beim P-Selektin-selektiven Liganden PSGL-1 sind O-verknüpfte N-Acetyllactosamine mit Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Determinaten für die Bindung wichtig, wobei eine an sauren Aminosäuren reiche und O-sulfatierte Tyrosine enthaltende Peptidsequenz beteiligt ist.<sup>[8, 9]</sup> Beim endogenen Adhäsionsliganden ESL-1<sup>[10, 11]</sup> für E-Selektin trägt ein N-Glycan den Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Liganden. Für die Bindung an E-Selektin, das auch in der hämatogenen Metastasierung eine Rolle spielt<sup>[2b]</sup> und z.B. spezifisch an gastrointestinale Tumorzellen bindet,<sup>[12]</sup> ist keine solche Beteiligung von Peptidepitopen aus dem ESL-1 beschrieben worden.

ESL-1 enthält fünf potentielle N-Glycosylierungsstellen,<sup>[11]</sup> wobei die umgebende Aminosäuresequenz im Vergleich zu jenen anderer an E-Selektin bindender Sialoglycoproteine weitgehend konserviert bleibt. So stimmt die Aminosäuresequenz 672–681 von ESL-1 **1** um das Sequon NLT mit der Sequenz 676–685 des E-Selectin-Liganden MG160<sup>[13]</sup> überein.

-Gly-Asn-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp **1**

## Synthetische Inhibitoren der Zelladhäsion: ein Glycopeptid aus dem E-Selektin-Liganden 1 (ESL-1) mit Arabino-Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Struktur\*\*

Markus Rösch, Holger Herzner, Wolfgang Dippold, Martin Wild, Dietmar Vestweber und Horst Kunz\*

Professor Leopold Horner zum 90. Geburtstag gewidmet

Im Verlauf der inflammatorischen Kaskade werden die Kohlenhydrat-erkennenden Rezeptoren, P-Selektin und E-Selektin, binnen Minuten bzw. 4 bis 6 Stunden nach einem chemotaktischen Reiz auf Endothelzellen exprimiert.<sup>[1]</sup> Das Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Epitop wurde als Ligand beider Selektine identifiziert.<sup>[2, 3]</sup>

Die Kohlenhydrat-bindende Domäne ist für das E-Selektin durch Transfer-NOE-Experimente an einem Komplex aus Sialyl-Lewis<sup>x</sup> und einem rekombinanten E-Selektin-IgG-Fusionsprotein, Molecular Modeling-Studien<sup>[4]</sup> und Röntgenstrukturanalyse<sup>[5]</sup> untersucht worden. Diese Studien belegen die entscheidende Rolle des Fucoserestes des Sialyl-Lewis<sup>x</sup> für die durch Komplexierung eines Calciumions vermittelte

In früheren Untersuchungen war für die Bindung von synthetischen Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Glycopeptiden sowohl an P-Selektin<sup>[14]</sup> als auch an E-Selektin<sup>[15]</sup> ein modulierender Einfluss des Peptidteils auf die Kohlenhydraterkennung gefunden worden. Da der Abschnitt **1** aus ESL-1 mit seiner Häufung an sauren Aminosäuren Ähnlichkeit zur Bindungsdomäne von PSGL-1 aufweist, haben wir ihn für die Konstruktion eines synthetischen E-Selektin-Liganden ausgewählt. Ein weiteres Ziel war es, einen ähnlich wie die Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Mimetika<sup>[16]</sup> gegen enzymatischen Abbau stabileren E-Selektin-Liganden zu finden. Ein Angriffspunkt des enzymatischen Abbaus von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> ist die Fucosid-Bindung.<sup>[17]</sup> Der Fucoseteil ist aber für die Bindung an E-Selektin (siehe oben) essentiell.<sup>[4, 5]</sup>

Geprüft werden soll nun, ob das  $\alpha$ -L-Fucosid durch ein  $\beta$ -D-Arabinopyranosid ersetzt werden kann, welches die drei sekundären Hydroxygruppen in gleicher räumlicher Anordnung wie das Fucosid trägt. D-Arabinose kommt in Säugetieren nicht vor, von daher sollten ihre Glycoside biologisch stabiler sein.

In der Synthese des Arabino-Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Saccharids wird wie in früheren N-Glycopeptidsynthesen<sup>[14, 15]</sup> die Azidogruppe als Schutz des anomeren Zentrums des Glucosamins verwendet.<sup>[18]</sup> Nach dem In-situ-Anomerisierungsverfahren<sup>[19]</sup> wird 4,6-Benzyliden-*N*-acetyl-glucosaminylazid **2**<sup>[20]</sup> mit Ethylthio-2,3,4-tri-*O*-benzyl- $\alpha$ , $\beta$ -D-arabinopyranosid **5** zum  $\beta$ -D-Arabinosyl-glucosaminazid **6** umgesetzt (Schema 1).

Wegen der hohen Säurelabilität der Arabinopyranose-Derivate muss die Tetra-*O*-acetyl-arabinopyranose **3**<sup>[21]</sup> mit Ethanthiol und  $\text{BF}_3$ -Etherat bei  $-15^\circ\text{C}$  umgesetzt und die Reaktionsmischung vor der Isolierung des Ethylthio-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ , $\beta$ -D-arabinopyranosids **4** bei dieser tiefen Temperatur mit einer zu  $\text{BF}_3$  äquimolaren Menge an Triethylamin neutralisiert werden. Aus **4** entsteht durch Umesterung mit Natriummethanolat/Methanol und anschließende Benzylie rung des Ethylthio-arabinopyranosids der Arabinosyldonor **5**.

[\*] Prof. Dr. H. Kunz, Dr. M. Rösch, Dipl.-Chem. H. Herzner  
Institut für Organische Chemie der Universität Mainz  
Duesbergweg 10–14, 55128 Mainz (Deutschland)  
Fax: (+49) 6131-39-24786  
E-mail: hokunz@mail.uni-mainz.de

Prof. Dr. W. Dippold  
Naturwissenschaftlich-Medizinisches Forschungszentrum der Universität Mainz und St. Vincenz-Hospital Mainz (Deutschland)  
Dr. M. Wild, Prof. Dr. D. Vestweber  
ZMBE – Institut für Zellbiologie, Universität Münster  
Von-Esmarch-Straße 56, 48149 Münster (Deutschland)

[\*\*] Diese Arbeiten wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt.